

脊椎动物小脑 EGL 的发育及其在 脑发育研究中的应用价值

阎玉芹 李健群

(佳木斯医学院地甲病研究室)

自从赫斯 (Hess) 1858 年首先描述了小脑皮质的外颗粒层(以下简称 EGL)存在以来,又有许多人陆续发现,在鸟类、哺乳类动物以及人类的胚胎期小脑皮质都存在 EGL,并在生后仍继续存在一个时期,以后逐渐变薄和消失^[1,2,7,9]。

EGL 是覆盖在脊椎动物小脑外部表面的细胞增殖而形成,又称胚胎颗粒层或边缘层^[1,7]。由于动物种属不同, EGL 出现的时间以及在生后持续存在的时间均不相同,但是,各种脊椎动物的 EGL 发育、消长规律却大致相同:均在胚胎期出现,生后继续分裂增殖,达高峰后逐渐变薄,最后完全消失。现已证明,在小脑除了神经上皮细胞外, EGL 也作为小脑的一种生发细胞,它能衍生分子层及内颗粒层中的神经细胞。在脑发育过程中,血液中某些因子,尤其甲状腺激素对 EGL 的增殖发育具有明显的影响^[6,11],此外,营养状况亦具有重要意义^[5]。由于 EGL 覆盖在小脑表面,极易辨认和观察,所以在研究碘与甲状腺激素对脑发育影响中,观察动物小脑 EGL 的变化是一项既准确又易掌握的实验指标,具有重要的应用价值。

一、EGL 的细胞形态特点

位置: EGL 位于小脑皮质外部表面,软脑膜下方。细胞排列较紧密,当小脑叶片形成后,位于叶片顶部的 EGL 细胞层次稍少于叶片间沟及间沟底部。

细胞形态特点: 根据对鸡、鸟、大鼠、小鼠及人的 EGL 的观察,其基本的细胞形态特点是胞质很少,核呈圆形或梭形,核质致密深染,

不见核仁,不易区分细胞类型。在 Golgi-Cox 氏染色切片中,可见到少数细胞具有两极胞突,与脑膜表面平行。EGL 在生后逐渐增殖过程中,仔细辨认细胞,可分为内外两层,外层细胞为圆形或椭圆形,与小脑叶片表面平行。内层细胞为梭形,与叶片表面垂直排列^[1,5]。实验证明,外层是 EGL 增殖细胞,细胞具有合成 DNA 能力,而内层细胞为 EGL 非增殖细胞,是由外层的增殖细胞所产生的成神经细胞,不具备合成 DNA 能力^[5]。随着 EGL 消失过程, EGL 细胞排列稀疏,数量减少,最后完全消失,而被分子层所取代。

二、EGL 的组织发生及细胞分化

关于 EGL 的组织发生,目前仍有争论。但大多数学者似乎同意沙珀 (Schaper) 的观点。按他的观点,脊椎动物在神经发生的早期阶段,神经管壁的神神经上皮细胞增殖,产生的新细胞向外迁移,覆盖了整个小脑外部表面,于是产生了 EGL。此时的 EGL 细胞仍表现有生发特点,可以继续增殖,即所谓 EGL 增殖细胞。弗吉塔 (Fujita) 等人^[5]应用累积注射 ³H-胸嘧啶进行放射自显影术来分析小鼠小脑 EGL 的组织发生,其实验结果进一步证实了沙珀的观点。EGL 增殖细胞的增殖分化过程是通过三个连续阶段完成的。I 阶段: EGL 增殖细胞分裂增殖,产生它们自己同类型细胞。II 阶段: EGL 增殖细胞产生成神经细胞,即内颗粒层及分子层神经细胞的前身细胞,这种成神经细胞不具备合成 DNA 能力,故称 EGL 的非增殖细胞,

直接位于EGL增殖层之下。III阶段：成神经胶质细胞形成阶段。由EGL增殖细胞产生的少量的成胶质细胞并向其它层迁移，此阶段仅存在于EGL消失前很短的时间内。

EGL增殖细胞是一种分裂旺盛的细胞，由它产生的成神经细胞(在第II阶段产生的)呈放射状迁移，分别进入分子层及内颗粒层，生成分子层的星形细胞、篮状细胞以及内颗粒层的颗粒细胞^[2,11,12,14]。经放射自显影术已证实^[5]，进入内颗粒层的那些细胞通过分子层是很快，仅几个小时就能进入内颗粒层，并在那里发育成成熟的颗粒细胞。

EGL是否产生小脑浦氏细胞仍有争议。有人认为是浦氏细胞中的一部分由EGL发生^[4]。但近来大多数人认为浦氏细胞是直接由室管膜神经上皮细胞向外迁移而分化发育成的。除此之外，室管膜神经上皮细胞还产生内颗粒层的高尔基(Golgi)氏细胞以及小脑大多数神经胶质细胞^[5,8,9]。

三、EGL的消长

除人类的EGL成熟及消长的变化未见记载外，其它脊椎动物如鸡、鸟及鼠类等的EGL变化均见有记载，其变化规律基本相同。

据文献报道，大鼠的EGL首先出现在胚胎第三周即胚胎最后一周，一直持续到生后头三周。在此期间，EGL厚度在生后第10天达高峰，以后逐渐变薄，最后于21天前消失^[2,7]。由于大鼠的种类不同，EGL的消长时间亦略有差别。所以有人观察到大鼠EGL在生后24天才消失^[6,10]。有关小脑EGL的研究报道的亦较多。吕卫^[1]曾观察小鼠小脑生后发育情况，发现EGL厚度在生后4—5天达高峰，由7—8层密集排列的细胞组成，以后细胞层次逐渐减少。与此同时，分子层及内颗粒层相应逐渐变厚，于生后18—20天时，EGL趋于消失，完全被分子层取代。米尔(Miale)^[9]和西德曼(Sidman)^[43]也报告了类似的结果。弗吉塔^[9]应用放射自显影术还研究了小鼠EGL的消长过程，发现小鼠于生后5—7天EGL细胞层次最多，达6—8

层，见深染密集的核，其标记细胞及标记分裂细胞所占比率达高峰；10天时细胞层次4—5层，并发现内颗粒层有大量标记细胞，证明小鼠在10日时，已有大量EGL细胞迁入内颗粒层。

现已发现EGL的消长与分子层、内颗粒层以及浦氏细胞的分化成熟之间存在有极为有趣的奥妙关系。许多实验已证明，EGL细胞增殖停止，即是细胞分化的开始。大鼠在生后10天左右，EGL细胞增殖达高峰，同时，由它产生的成神经细胞(即分子层及内颗粒层的神经细胞前身)开始逐渐分化与迁移。值EGL消失时，也正是它所衍生的神经细胞达成熟之时^[1,5,8,10]。这与动物开始出现行为表现及小脑成熟密切相关。艾迪生^[3](Addison)饲养的大鼠，生后裸体无毛，眼睑紧闭，躺卧无力，而大鼠出现行动时约在生后 $3\frac{1}{2}$ 周，小鼠在 $2\frac{1}{2}$ 周，这正是小脑EGL消失时间，也正是浦氏细胞，内颗粒层及分子层细胞成熟的时间。

四、甲状腺激素对小脑EGL的影响

众所周知，甲状腺激素对人和其它哺乳类动物的正常脑发育起着非常重要的作用。它主要影响了成神经细胞的增殖、分化、迁移、髓鞘的形成以及影响了神经细胞对DNA、RNA、蛋白质、神经递质和各种酶类的合成过程^[4,6]。大量资料表明，甲状腺激素对脑发育的影响具有时限性，就是说这种影响主要限于脑组织尚未成熟的生长期，即脑发育的临界期^[6]。而小脑EGL的发育、消长过程正是处于甲状腺激素对脑发育产生影响的时期内。所以可以推测，正常的甲状腺激素水平将是维持小脑EGL的正常发育不可缺少的因素。在脊椎动物小脑发育过程中，EGL出现较早，它作为一种生化细胞继续增殖、分化、迁移，产生分子层及内颗粒层的神经细胞以及一部分神经胶质细胞。因此，很多学者都把小脑EGL的消长变化作为衡量脑发育(至少小脑发育)的一项重要指标。

近期研究已经证明新生儿甲状腺功能低下(甲低)或甲状腺功能亢进(甲亢)均能明显影响

小脑 EGL 的增殖时间以及分化开始时间。劳德^[8] (Lauder) 和尼科尔森^[10] (Nicholson) 等人应用注射 ³H-胸腺嘧啶放射自显影术研究了甲低和甲亢时大鼠 EGL 细胞增殖的动力学变化, 观察了 EGL 的标记指数(指处于细胞周期的 S 期细胞所占比率)、分裂指数(正处于分裂期细胞所占比率)以及固缩(死亡)指数(固缩细胞所占比率)等项指标, 并计算了 EGL 的细胞周期及其各时相的时间变化。其结果是: 甲低动物小脑 EGL 增殖缓慢, 增殖期延长, 故 EGL 消失延迟。10 日龄时, 标记指数明显减少, 但细胞周期及分裂指数、死亡指数均没有显著变化。由于 EGL 增殖延长, 则引起向内颗粒层及分子层细胞分化亦延迟。因为这些 EGL 细胞持续增加的时间延长, 故最终导致星形细胞、颗粒细胞数量增加, 但篮状细胞减少, 推测篮状细胞减少可能由于甲状腺激素缺乏时对不同种类细胞产生不同影响的缘故, 或者尚有其它原因, 有待于进一步探讨。另外, 尚发现甲低小脑存在暂时性细胞数量减少以及永久性的细胞体积减小和排列密度增加。细胞数量暂时性减少推测是因为 EGL 细胞增殖率减少的结果, 细胞体积减小则是脑重量减轻的主要原因。

新生期甲亢动物, 小脑 EGL 细胞的增殖过早终止伴 EGL 过早消失。10 日龄时, 原子示踪方法测得细胞周期缩短, 主要减少了 G₁ 期的时间。标记指数及分裂指数明显减少, 这是因为细胞周期变短且细胞增殖提前停止之故。由于 EGL 过早终止增殖, 故引起分子层、内颗粒层细胞过早分化, 而使颗粒细胞、星形细胞以及篮状细胞最终数量减少。另外, 尚存在细胞总数永久性减少, 则造成脑重量减轻, 但不伴有细胞排列密度及细胞大小的改变^[9,10]。

还有许多作者分别报告了类似的结果。

五、EGL 在脑发育研究中的应用价值

综上所述, 在小脑发育过程中, EGL 作为一种生发细胞, 甲状腺激素直接影响了它的分化、发育及迁移, 因而也必然地影响了由它所衍生的分子层、内颗粒层以及浦氏细胞层的正常

发育。另外, EGL 作为一种容易观察、辨认的组织细胞, 又是各种脊椎动物所共同具有的一种小脑生发细胞, 这就为我们研究正常或病理性脑发育提供了非常可取的实验指标。可以推测, 利用定量组织学、生物化学以及原子示踪等方法研究 EGL 出现的时间、消长情况、细胞增殖、迁移、细胞周期以及细胞合成 DNA、RNA、蛋白质等情况将能为深入探讨脑发育开辟新的领域。

参 考 文 献

- [1] 吕卫 1965 小白鼠小脑皮质的生后发育。解剖学报 8(3): 386—392。
- [2] Alman, J. 1972 Postnatal development of the cerebellar cortex in the rat. *J. Comp Neuro* 145: 353—398.
- [3] Addison, W. H. F. 1911 The development of purkinje cell and of the cortical layer in the cerebellum of the albino rat. *J. Comp Neuro* 21: 459—487.
- [4] Clos, J. et al. 1973 Differential effects of Hypothyroidism and undernutrition on the development of glia in the rat cerebellum. *Brain Res* 63: 445—449.
- [5] Fujita, S. et al. 1966 H-thymidin autoradiographic studies on the cell proliferation and differentiation in the external granular layer of the mouse cerebellum. *J. Comp Neuro* 128: 191—208.
- [6] Hetzel, B. S. et al. 1979 Thyroid function, Iodine nutrition and fetal brain development. *Clin Endocri* 11: 445—460.
- [7] Koppel, H. et al. 1982 Tstudy on the vascular supply to the external granular layer of the postnatal rat cerebellum. *J. Anat* 134: 73—84.
- [8] Lauder, J. M. 1977 The effect of early hypo- and hyperthyroidism on the development of rat cerebellar cortex III kinetics of cell proliferation in the external granular layer. *Brain Res* 126: 31—51.
- [9] Miale, I. L. et al. 1961 An autoradiographic analysis of histogenesis in the mouse cerebellum. *Exptl Neurol* 4: 277—296.
- [10] Nicholson, J. L. et al. 1972 The effects of early hypo- and hyperthyroidism on the development of rat cerebellar cortex I Cell proliferation and differentiation. *Brain Res* 44: 13—23.
- [11] Patel, A. J. et al. 1979 Effects of thyroxine on postnatal cell acquisition in the rat brain. *Brain Res* 172: 52—72.
- [12] Swarz, J. R. et al. 1977 Lack of evidence for glial cells originating from the EGL in mouse cerebellum. *J. Neurocytology* 6: 241—250.
- [13] Sidman, R. L. et al. 1960 Pattern of histogenesis in the mouse cerebellum studied by autoradiogra-

phy. *J. Neuropa Exptl Neuro* 19: 147.

[14] Uzman, L. L. 1960 The histogenesis of the mou-

se cerebellum as studied by its tritiated thymidine uptake. *J. Comp Neuro* 114: 137—160.